Cromosomas B y su incidencia en la división meiótica en dos especies de la subfamilia Leptysminae (Orthoptera: Acrididae)

Ruiz de Bigliardo, Graciela E.[1,2]; María S. Caro[1,2]; Sonia Turk[3]; María M. Moreno Ruiz Holgado[2]

[1] Instituto de Genética, Fundación Miguel Lillo. Miguel Lillo 251, (4000) San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina.

[2] Facultad de Ciencias Naturales, Universidad Nacional de Tucumán. Miguel Lillo 205, (4000) San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina. grabigliardo@hotmail.com

[3] Instituto de Entomología, Fundación Miguel Lillo. Miguel Lillo 251, (4000) San Miguel de Tucumán, Tucumán, Argentina.

➤ **Resumen** — En este trabajo se estudiaron los cromosomas B en dos especies de la subfamilia Leptysminae: *Cornops frenatum cannae* Roberts y Carbonell y *Stenopola bohlsii* Giglio Tos, colectados, en el Dpto. Monteros, Tucumán. En el genoma eucarionte (animales - vegetales), se encontraron elementos accesorios como los cromosomas B, también llamados cromosomas supernumerarios. La presencia de este tipo de cromosomas en Ortópteros, es un hecho frecuente. El análisis citogenético reveló un complemento cromosómico diploide 2n=23 (♂). Al analizar las células en división meiótica, se presentaron diferencias intrafoliculares relacionadas con el número cromosómico, cromosomas rezagados, anomalías durante la segregación de los cromosomas y presencia de espermátidas anormales. La observación de estos resultados nos permitió evaluar la incidencia de los cromosomas accesorios en esta división celular. Existen evidencias que estos elementos genéticos extra están involucrados en desórdenes citológicos y fisiológicos determinantes de cambios endofenotípicos y no exofenotípicos. Se debe destacar que este trabajo representa el primer aporte citogenético de estas especies, resaltando además que *Cornops frenatum cannae* es endémica en la provincia de Tucumán.

Palabras clave: Cromosomas B, citogenética, meiosis, *Cornops frenatum cannae, Stenopola bohlsii.*

➤ **Abstract** — "B-chromosomes and their incidence on the meiotic division in two species belonging to the Leptysminae subfamily (Orthoptera: Acrididae)". Here we present a study on B-chromosomes in two species of the Leptysminae subfamily: *Cornops frenatum cannae* Roberts and Carbonell and *Stenopola bohlsii* Giglio Tos, collected in Monteros, Tucumán. Accessory elements such as B chromosomes, also called supernumerary chromosomes, may be present in the eucaryotic genome (animals – plants). The presence of this type of chromosomes is frequent in orthopterans. Conventional cytogenetic techniques were used in order to describe the karyotype and male meiosis of *C. frenatum cannae* and *S. bohlsii*. The cytogenetic analysis revealed a karyological formula of 2n=23 (♂). When analyzing the cells during the meiotic division, some intrafollicular differences related to B chromosome number appeared, such as lagging chromosomes, anomalies during chromosome segregation and the presence of abnormal spermatids. Observation of these results allowed us to evaluate the incidence of accesory chromosomes in cell division. There is evidence that these extra genetic elements are involved in cytologic as well as in physiological disorders that determine endophenotypic rather than exophenotypic changes. It is worth noting that this paper represents the first cytogenetic contribution for these species, and also that *Cornops frenatum cannae* is endemic in the province of Tucumán.

Keywords: Chromosomes B, cytogenetics, meiosis, *Cornops frenatum cannae, Stenopola bohlsii.*

Recibido: 14/03/13 – Aceptado: 12/10/13

INTRODUCCIÓN

Los cromosomas B son elementos extra del juego de cromosomas autosómicos en el genoma eucariota. Se encontraron en el 15 % de una amplia variedad de plantas y animales, en estado polimórfico y/o politípico (Bakkali *et al.* 1999). Por estas características en el complemento cromosómico son elementos supernumerarios o accesorios y no vitales.

Aunque los cromosomas B generalmente no expresan genes mayores, pueden afectar características cuantitativas en las especies portadoras, asociadas al vigor, desarrollo, fertilidad y fecundidad (Camacho *et al.* 2000). Sin embargo, en muchas especies los cromosomas B han expresado genes activos de ARNr mediante el uso de técnicas de impregnación argéntica no siempre detectadas por estudios de hibridación fluorescente *in situ* (FISH) (Cabrero y Camacho, 2008; Teruel *et al.*, 2009a)

Los genomas portadores de cromosomas B exhiben mecanismos de resistencia a la transmisión, lo que demuestra, una competencia genética entre los cromosomas autosómicos y los accesorios. Los modelos propuestos que justifican la permanencia de estos cromosomas supernumerarios en las poblaciones naturales son varios. Uno de ellos, el parasítico, propone un equilibrio entre los mecanismos de transmisión y los efectos perjudiciales que producen (Östergren, 1945; Nur, 1966; Jones, 1985). Camacho *et al.* (1997), no plantea un equilibrio, sino la existencia de genes supresores en el complemento cromosómico, capaces de neutralizar los mecanismos de transmisión, generando diversas formas de cromosomas B (polimorfismos de cromosomas B). El modelo heterótico propone un balance entre número - efectos. Efectos benéficos con bajo número de cromosomas B o efectos perjudiciales con el incremento del número de cromosomas B (White, 1973). Sin embargo, la permanencia de los cromosomas en las poblaciones no puede ser explicado satisfactoriamente por los modelos parasítico ni heterótico (Zima *et al.*, 2003)

A pesar de la descripción temprana de los cromosomas accesorios (Wilson, 1907), su origen es aún desconocido. Ellos podrían haberse originado por cruzamientos interespecíficos (Camacho *et al.*, 2000; Perfectti y Werren, 2001; Jones y Houben, 2003) o bien intraespecíficos (Houben *et al.*, 1996; Puertas, 2002; Camacho, 2005). Se sugiere por el origen intraespecífico, que los cromosomas B están compuestos en su mayoría por secuencias compartidas con la de los cromosomas autosómicos (A). Para el caso, representarían un subproducto de los cromosomas A generados durante la evolución, pero a su vez hace improbable la ocurrencia de secuencias propias exclusivas en este tipo de cromosomas. Si bien ellos pudieron haber derivado de los cromosomas A, luego siguieron su propio camino evolutivo (Beukeboom, 1994).

Numerosos estudios moleculares muestran que los cromosomas B son frecuentemente portadores de secuencias de ADN altamente repetidas, con una amplia variedad de tipos y números, transcripcionalmente inactivas (Zeyl y Green, 1992; Franks *et al.*, 1996). Secuencias presentes en el ADN ribosómico, centromérico, telomérico, en los elementos genéticos transponibles y además secuencias de genes estructurales que codifican proteínas (Graphodatsky *et al.*, 2005; Teruel *et al.*, 2010).

La subfamilia Leptysminae (Acrididae: Orthoptera) se encuentra ampliamente distribuida en la región Neotropical. En el presente trabajo se estudiaron citogenéticamente las especies *Cornops frenatum cannae* Roberts y Carbonell y *Stenopola bohlsi* Giglio-Tos, pertenecientes a esta subfamilia. La primera de las dos especies es además endémica en la provincia de Tucumán (Turk *et al.,* 2000).

Los Acrídidos muestran una notable uniformidad cariotípica con un número cromosómico diploide 2n=23(♂) y un sistema de determinación del sexo X0:XX (♂:♀) (Hewitt, 1979; Confalonieri y Bidau, 1986; Colombo, 1997). En la subfamilia Leptysminae se cita la ocurrencia de cariotipos derivados no frecuentes, con reducción del núme-

ro cromosómico debido a fusiones céntricas de cromosomas autosómicos (Mesa *et al*., 1982; Bidau y Hasson, 1984; Loreto y Souza, 2000).

En este trabajo analizamos el polimorfismo numérico de los cromosomas B en *Cornops frenatum cannae* y *Stenopola bohlsii,* y los efectos endofenotípicos sobre el comportamiento meiótico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los ejemplares machos adultos utilizados en este estudio de *Cornops frenatum cannae* y *Stenopola bohlsii* fueron colectados en Monteros, provincia de Tucumán (S 27º 07'28.23" W 65º29'43.56", 368 msnm.)

Stenopola bohlsii se halla estrechamente asociada con diferentes especies del estrato arbustivo donde se refugia, durante todo su ciclo de vida. Es el único Leptysminae estudiado en la provincia que hace uso del arbustal (Turk y Aquino, 2009). La distribución altitudinal de esta especie se encuentra entre 350 a 1500 msnm.

Cornops frenatum cannae es endémica en la provincia de Tucumán mostrando preferencia y un alto grado de asociación con *Canna edulis* y *C. glauca* especialmente en primavera y verano, época de oviposición y ciclo ninfal. Constituyen poblaciones muy densas en el centro y sur de Tucumán, llegando solamente a los 800 msnm. En el laboratorio se extrajeron testículos de 20 (veinte) individuos de cada especie que se fijaron y conservaron en la heladera. La fijación se realizó en la mezcla etanol-ácido acético glacial en la proporción 3:1.

La división meiótica se analizó en células provenientes de los folículos testiculares procesados por las técnicas convencionales de squash. La tinción se realizó por el método de Feulgen para ADN, con una hidrólisis previa durante 25' a 65ºC con HCL 1 N (ácido hidroclórico)

Las preparaciones microscópicas transitorias se montaron en ácido acético al 45 % y para las definitivas se empleó un medio neutro. La morfología de los cromosomas se describió usando la nomenclatura de Levan *et al.* (1964). La observación se realizó con un microscopio Zeiss Axiolab, mientras que las microfotografías se obtuvieron con una cámara digital MOTICAM 1000.

RESULTADOS

Las poblaciones naturales de *Cornops frenatum cannae* y *Stenopola bohlsii* están representadas por individuos con un cariotipo normal en los machos (♂) 2n=23, cromosomas acrocéntricos y un mecanismo de determinación del sexo del tipo X0:XX (♂:♀). El cromosoma sexual X es de tamaño mediano, portador de heteropicnosis fuertemente positiva durante las primeras etapas de la Profase I. Esta condición se revierte en la segunda mitad de la Profase I por lo que cromosomas autosómicos y sexuales exhiben similar grado de tinción y condensación.

En las poblaciones naturales de ambas especies, varios ejemplares fueron portadores de cromosomas B. Entre células de los folículos testiculares se observaron notables polimorfismos numéricos, mientras que otras, carecían de estos elementos genéticos extra. Ellos son más pequeños que el cromosoma sexual X, pero exhibieron el mismo grado de tinción. En las dos poblaciones, los cromosomas B permanecen como univalentes durante la meiosis.

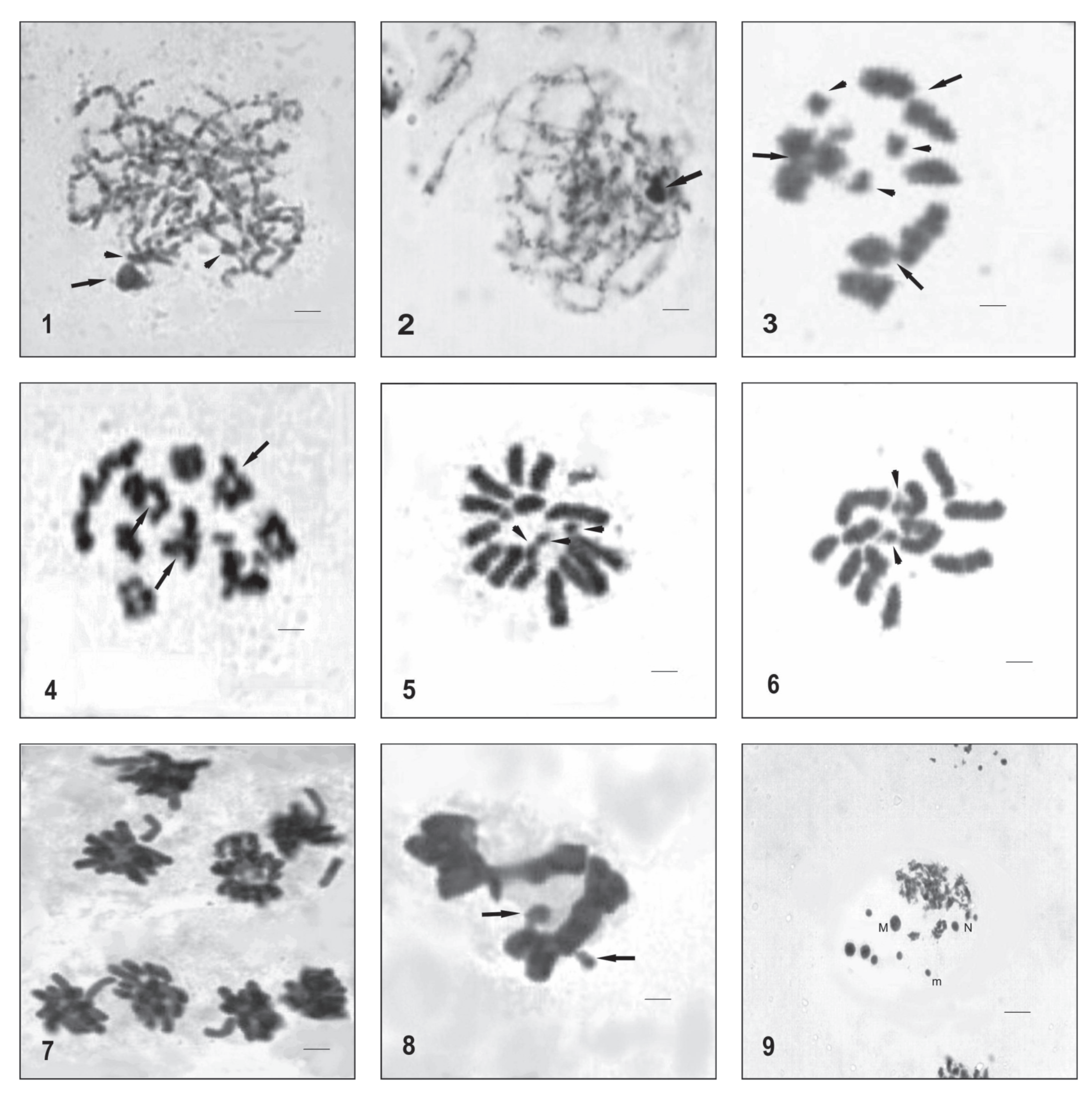
Cornops frenatum cannae

Entre las células meióticas de un folículo en esta especie, se observaron notables diferencias relacionadas con el comportamiento de los cromosomas durante la división. Además, presentaron un número variable de cromosomas extra (0 a 3) es decir, fueron mosaicos para los cromosomas B.

Durante el cigotene en algunas células, se identificó la temprana condensación del cromosoma sexual X y los cromosomas B, los cuales exhibieron idéntico comportamiento y grado de heteropicnosis (Fig. 1). La condensación de estos cromosomas es claramente diferente a la condensación de los cromosomas del resto del complemento de la línea germinal. Esta característica los

hace fácilmente distinguible de los bivalentes autosómicos. Sin embargo en otros núcleos en la misma etapa, se notó la condensación sólo del cromosoma sexual X (Fig. 2).

En diplotene/diacinesis, los cromosomas exhibieron asociaciones no quiasmáticas por los telómeros de diversos tipos: entre bivalentes autosómicos; bivalentes autosómicos y cromosomas B; entre univalentes B, pero nunca observamos las asociaciones de cromosomas B y sexual X (Fig. 3). Asimismo los bivalentes autosómicos en esta etapa, normalmente exhiben uno o dos quiasmas con localización terminal, subterminal o in-



Meiosis en *Cornops frenatum cannae* (Figs. 1 a 9, escala 10 µm). **1)** Cigotene con temprana condensación del cromosomas B ➥ y cromosoma sexual X ➥. **2)** Cigotene sin cromosomas B. La flecha indica el cromosoma sexual X. **3)** Diacinesis: las flechas indican las asociaciones teloméricas entre los cromosomas. Las puntas de flecha indican los cromosomas B. **4)** Diacinesis con evidentes quiasmas terminales y subterminales (flechas). **5 y 6)** Metafase I. Bivalentes autosómicos y univalentes cromosomas B. Las puntas de flecha indican cromosomas B. **7)** Anafase I con cromosoma rezagados. **8)** Anafase II con cromosomas rezagados (flechas) y segregación irregular de las masas cromatínicas. **9)** Micro espermátidas (m), macro espermátidas (M) y espermátidas normales (N).

tersticial (Fig. 4). También se observaron en células sin cromosomas B, diacinesis sin asociaciones, bivalentes con igual heteropicnosis y un cromosoma sexual X claramente identificado por su tinción diferencial. Además durante la diacinesis, los bivalentes autosómicos cambian su afinidad por la tinción, de manera que en metafase I la isopicnosis es marcada entre los componentes del complemento cromosómico.

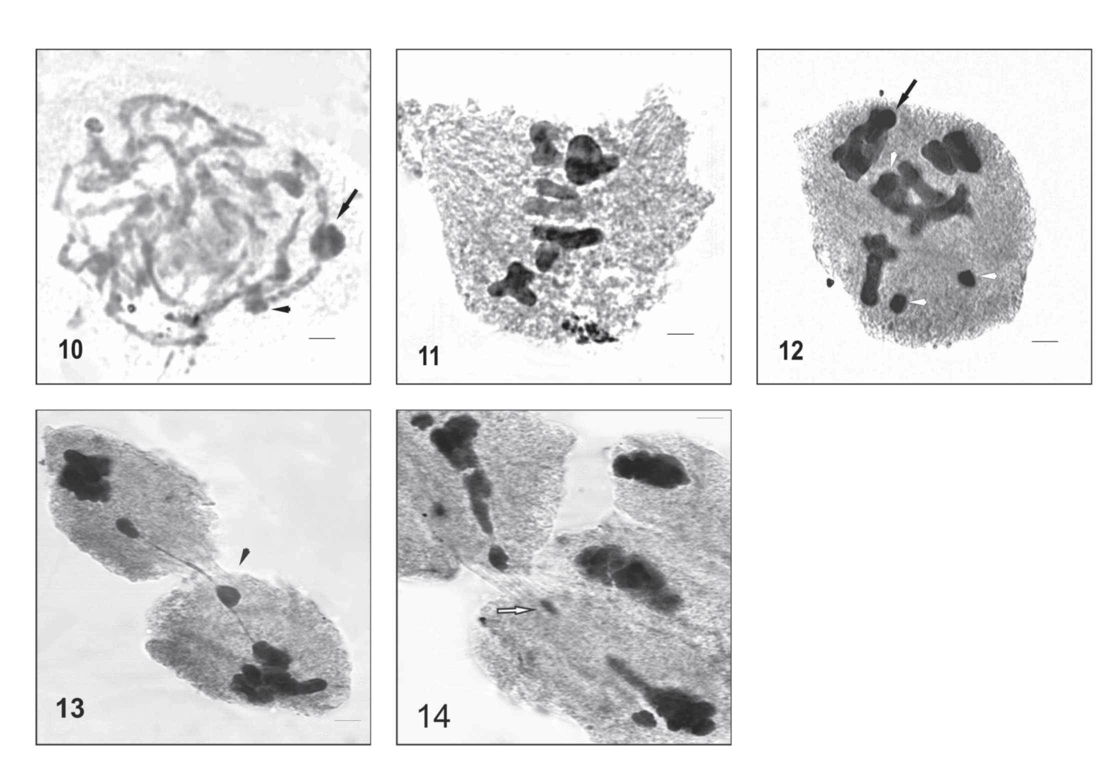
Los cromosomas B fueron identificados en número variable, uno, dos o tres, en Metafase I (Figs. 5 y 6). En Anafase I los autosomas se dirigen hacia los polos después de la división reduccional, pero se hace evidente la ocurrencia de cromosomas rezagados (Fig. 7). En anafase II suceden serias deficiencias durante la segregación. En los polos se observan cromosomas rezagados y diferencias cuantitativas de las masas cromatínicas (Fig. 8).

En los ejemplares que exhibieron células con cromosomas B, se identificaron espermátidas anómalas además de las espermátidas regulares. Las irregularidades en Telofase II incidieron en la formación de macroespermátidas y microespermátidas (Fig. 9).

Las células meióticas de machos sin cromosomas B, mostraron un comportamiento completamente normal.

Stenopola bohlsii

Las células intrafoliculares procedentes de la población de *Stenopola bohlsii* mostraron cromosomas B en número variable y un comportamiento meiótico similar al observado en *Cornops frenatum cannae*. En las primeras etapas de la profase I identificamos la condensación temprana del cromosoma sexual X y los cromosomas B, exhibiendo ambos igual comportamiento (Fig. 10).



Meiosis en *Stenopola bohlsii* (Figs. 10 a 14, escala 10 µm). **10)** Heteropicnosis positiva de cromosomas B ➥ y sexual X ➥ en cigotene. **11)** Metafases I regular. **12)** Bivalentes fuertemente asociados en Metafase I. La flecha indica el cromosoma sexual X y las puntas de flechas blancas los cromosomas B. **13)** Anafase I. Se observa puente y cromosomas rezagados (punta de flecha). **14)** La flecha blanca muestra el fragmento acéntrico.

Asimismo los cromosomas B se identificaron con dificultad en metafase I. Los cromosomas del complemento tienden a aglutinarse, pero es notable la disposición de los cromosomas B y el cromosoma sexual X durante esta etapa. Ambos elementos genéticos se ubicaron por fuera de la masa cromatínica diferenciándose ligeramente de los cromosomas autosómicos. En la metafase I que no exhibieron los elementos extra, los cromosomas del complemento mostraron un comportamiento normal (Fig. 11). En *Stenopola bohlsii*, los cromosomas B también se presentaron en número variable, encontrándose un número máximo de tres (Fig. 12).

La anafase I mostró notables deficiencias. En ellas, se identificaron puentes cromatínicos, cromosomas rezagados y fragmentos cromosómicos. Los cromosomas rezagados durante la segregación, en ocasiones formaron puentes cromatínicos entre los homólogos y también mantuvieron conexiones con la masa polar (Fig. 13). Si los puentes no se resuelven adecuadamente se generan los fragmentos cromosómicos acéntricos como los observados en esta especie (Fig. 14).

A pesar de las irregularidades observadas en la división meiótica de *Stenopola bohlsii,* no se detectaron espermátidas anómalas.

En cuanto a las células meióticas de machos sin cromosomas B, éstas mostraron un comportamiento completamente normal.

DISCUSION Y CONCLUSIONES

Acrididae es la familia de ortópteros que, por su amplia distribución y el número de especies descriptas, han sido objeto de profundos estudios citogenéticos por numerosos investigadores, aportando en forma notable al conocimiento del taxón. No obstante la información que se genera continuamente, la variación genética intraespecífica y las diferencias interespecíficas son campos poco explorados.

La subfamilia Leptysminae presenta un cariotipo básico 2n=23, X0 (♂) (Mesa *et al.,* 1982; Confalonieri y Bidau; 1986; Loreto y Souza, 2000) pero también se destacan alteraciones cariotípicas causadas por fusiones céntricas autosómicas y responsables de estas desviaciones (Mesa *et al.,* 1982; Bidau y Hasson, 1984).

Las especies investigadas en este trabajo de la subfamilia Leptysminae, *Cornops frenatum cannae* y *Stenopola bohlsii* presentan marcadas similitudes en cuanto al número y morfología de los cromosomas con otras especies de la subfamilia. El cariotipo básico de ambas especies concuerda además con el aportado para la familia Acrididae, 2n=23, X0 (♂). Ambas poblaciones analizadas son portadoras de cromosomas B, en número variable de cero a tres.

Los cromosomas B son cromosomas extra presentes en algunos individuos de las especies eucariotas portadoras. La mayoría son heterocromáticos compuestos por secuencias de ADN altamente repetido, genéticamente inerte y probablemente derivan del genoma de la célula huésped (Camacho *et al.*, 2000)

Este tipo de cromosomas también fue descripto en otros Leptysminae (Bidau y Hasson, 1984; Confalonieri y Bidau, 1986; Colombo, 1989, 1997). Tienen un comportamiento picnótico similar al que presentan los cromosomas sexuales X. La variación numérica intraindividual es inter e intrafolicular.

El polimorfismo numérico de los cromosomas B se atribuye a la inestabilidad mitótica por la no disyunción durante la división en las células embrionarias, lo que genera un mecanismo de transmisión premeiótico en los machos (Cabrero *et al.,* 1984; Viseras *et al.*, 1990; Pardo *et al.*, 1994, 1995).

Aunque no se conozcan datos certeros sobre la incidencia de los cromosomas B en las especies estudiadas *Cornops frenatum cannae* y *Stenopola bohlsii*, se deben admitir ciertas irregularidades durante la división meiótica tal como, cromosomas rezagados, puentes cromatínicos durante la segregación de los cromosomas, identificación de segmentos acéntricos, macroespermátidas y microespermátidas.

Los cromosomas B estudiados en hembras de *Eyprepocnemis plorans* inciden negativamente sobre la fertilidad de los huevos

(Muñoz *et al.,* 1998; Zurita *et al.*, 1998) y la formación de espermátidas anómalas en los machos, pero no está debidamente comprobado si afectan significativamente la disminución de la fertilidad en los machos (Suja y Rufas 1989; Teruel *et al.*, 2009b). Jones (1985) tempranamente sostiene que los cromosomas B tienden a mostrar efectos en detrimento de la fertilidad.

Sin embargo, en *Dichroplus elongatus,* la presencia de los cromosomas B se correlaciona con la disminución del tamaño del cuerpo y un aumento del potencial reproductivo en las hembras a causa del incremento en el número de ovariolas (Rosetti *et al.,* 2007).

En langostas, el efecto de los cromosomas B sobre la espermiogénesis conduce a la producción simultánea de núcleos haploides deficientes, micro y macroespermátidas, reconocidas fácilmente por las características diferencias de tamaño (Suja *et al.*, 1986; Bidau, 1986).

Hace varias décadas, Nur (1969) sugirió que la mayoría de las microespermátidas se forman por eliminación de los cromosomas B durante la división. El empleo de sondas específicas de ADN para cromosomas B y autosómicos, permite analizar el contenido de este tipo de espermátidas y comprobar la existencia de ambos tipos de secuencias (Chiavarino, 2000). Las microespermátidas de *Eyprepocnemis plorans* son portadoras de ADN autosómico pero asimismo, las espermátidas aparentemente normales, son aneuploides para un cromosoma autosómico (Camacho *et al.,* 2004).

La formación de macroespermátidas probablemente estaría relacionado con el bloqueo de la citocinesis por los cromosomas autosómicos rezagados o los cromosomas B. Ellos podrían inducir división citoplasmática desigual y/o fusión nuclear. Estos núcleos anómalos han sido observados aún ante la presencia de cromosomas B y comportamiento meiótico regular.

Hewitt (1973) sostiene que los cromosomas B afectarían en forma indirecta los procesos celulares mediante daños en los mecanismos responsables de conservar la individualización de las espermátidas durante los estadios meióticos. La alteración de estos mecanismos genera macroespermátidas debido a la fusión nuclear (Suja *et al.,* 1986).

La observación de los puentes cromatínicos entre los núcleos y los fragmentos libres observados durante la primera división meiótica, en los ejemplares analizados de *Stenopola bohlsii,* demuestra la posible influencia de los cromosomas B durante la segregación. Los fragmentos acéntricos en estos ejemplares se generan por ruptura de los puentes cromatínicos formados en la zona medial cuando los cromosomas homólogos migran a los polos.

La permanencia de los cromosomas extras durante la división meiótica como univalentes causa inestabilidad y complica la segregación, con probables efectos sobre la citocinesis. Este comportamiento no se presenta en aquellas especies donde los cromosomas B forman bivalentes (Rebollo *et al.,* 1998; Camacho *et al.*, 2004).

Las irregularidades que se presentan durante la división meiótica y conducen a la formación de espermátidas anómalas, al parecer no afectan la fertilidad del macho en los Acrídidos. Bajo estas condiciones, los machos producen exceso de esperma a los fines de asegurar la fecundación de la puesta por la hembra (López-León *et al.,* 1994). En los ejemplares de las especies de *Cornops frenatum cannae* y *Stenopola bohlsii* que no eran portadoras de cromosomas B, la división meiótica es regular.

Los polimorfismos para los cromosomas B en estas poblaciones representan una herramienta útil para comprender los mecanismos evolutivos a nivel cromosómico. Asimismo la aplicación de técnicas moleculares pondría en evidencia aspectos relacionados con el origen y evolución que experimentan estos cromosomas.

LITERATURA CITADA

Bakkali, M., Cabrero, J., López-León, M., Perfectti, F. y Camacho, J. 1999. The B chromosome polymorphism of the grasshopper *Eyprepocnemis plorans* in North Africa. I. B variants and frequency. Heredity, 83: 428-434.

Beukeboom, L. 1994. Phenotypic fitness effects of the selfish B chromosome, paternal sex ratio (PCR) in the parasitic wasp *Nasonia vitripennis*. Evolutionary Ecology, 8: 1-24.

Bidau, C. 1986. Effects on cytokinesis and sperm formation of a B-isochromosome in *Metaleptea brevicornis adspersa* (Acridinae, Acrididae). Caryologia, 39: 165-177.

Bidau, C. y Hasson, E. 1984. Population cytology of *Leptysma argentina* Bruner (Leptysminae, Acrididae). Genetica, 62: 161-175.

Cabrero, J. y Camacho, J. 2008. Location and expression of ribosomal RNA genes in grasshoppers: Abundance of silent and cryptic loci. Chromosome Research, 16(4): 595-607.

Cabrero, J., Viseras, E. y Camacho, J. 1984. The B chromosomes of *Locusta migratory*. 1. Detection of negative correlation between mean chiasma frequency and the rate of accumulation of the Bs. A reanalysis of the available data about the transmission of these B chromosomes. Genetica, 64: 155-164.

Camacho, J. 2005. B chromosomes. En: T. R. Gregory (ed.). The evolution of the genome. Academic Press, New York, pp. 223-286

Camacho, J., Sharbel, T. y Beukeboom, L. 2000. B-chromosome evolution. Philosophical Transactions of the Royal Society B Biological Sciences, 355: 163-178.

Camacho, J., Perfectti, F., Teruel, M., López-León, M. y Cabrero, J. 2004. The odd-even effect in mitotically unstable B chromosomes in grasshoppers. Cytogenetic and Genome Research, 106: 325-331.

Camacho, J., Shaw, M., López-León, M., Pardo, M. y Cabrero, J. 1997. Population dynamics of a selfish B chromosome neutralized by the standard genome in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. The American Naturalist, 149:1030-1050.

Chiavarino, A., Rosato, M., Manzanero, S., Jiménez, G., González-Sánchez, M y Puertas, M. 2000. Chromosome nondisjunction and instabilities in tapetal cells are affected by B chromosomes in maize. Genetics, 155: 889-897.

Colombo, P. 1989. Chromosome polymorphisms affecting recombination and exophenotypic traits in *Leptysma argentina*: a populational survey. Heredity, **62:** 289–299.

Colombo, P. 1997. Exophenotypic effects of chromosomal change: the case of *Leptysma argentina* (Orthoptera). Heredity, 79: 631-637.

Confalonieri, V. y Bidau, C. 1986. The B-chromosomes of two species of *Cylindrotettix* (Leptysminae, Acrididae). Genetica, 68: 87-95.

Franks, T., Houben, A., Leash, C. y Timmis, J. 1996. The molecular organization of a B chromosome tandem repeat sequence from *Brachycome dichromosomatica*. Chromosoma, 105: 223-230.

Graphodatsky, A., Kukekova, A., Yudkin, D., Trifonovva, V., Beklemisheva, V., Perelman, P., Graphodatskaya, D., Trut, L., Yang, F., Ferguson-Smith, M., Acland, G. y Aguirre, G. 2005. The proto-oncogene C-KIT maps to canid B-chromosomes. Chromosome Research, 13: 113-122.

Hewitt, G. 1973. Variable transmission rates of a B chromosome in *Myrmeleotettix maculatus* (Thunb) (Acrididae:Orthoptera). Chromosoma, 40: 83-106.

Hewitt, G. 1979. Orthoptera. Grasshoppers and crickets. Animal Cytogenetics 3 Insecta 1. Gebrüder Borntraeger, Berlin, Stuttgart 170 pp.

Houben, A., Kynast, R., Heim, U., Hermann, H., Jones, R. y Forster, J. 1996. Molecular cytogenetic characterization of the terminal heterochromatic segment of the B-chromosome of rye (*Secale cereale*). Chromosoma, 105: 97-103.

Jones, R. 1985. Are B chromosomes selfish? En: T. Cavalier-Smith (ed.), The Evolution of Genome Size. Wiley, London, pp. 397- 425.

Jones, R. y. Houben, A. 2003. B chromosomes in plants: Escapes from the A chromosome genome? Trends Plants Science, 8: 417-423.

Levan, A., Fredga, K. y Sandberg, A. 1964. Nomenclature for centromeric position on chromosomes. Hereditas, 52: 201-220.

López-León, M., Pardo, M, Cabrero, J. y Camacho, J. 1994. Dynamics of sperm storage in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. Chromosome Research, 14: 693-700.

Loreto, V. y Souza, M. 2000. Karyotype, constitutive heterochromatin and nucleolar organizer regions (NORs) in *Belosacris coccineipes* (Acrididae, Leptysminae). Genetics and Molecular Biology, 23: 575-579.

Mesa, A., Ferreira, A. y Carbonell, C. 1982. Cariologia de los Acridoideos Neotropicales: estado actual de su conocimiento y nuevas contribuciones. Annales de la Societé Entomologique de France (n.s.), 18: 507-526.

Muñoz, E., Perfectti F., Martin-Alganza, A. y Camacho, J. 1998. Parallel effects of a B chromosome and a mite that decrease female fitness in the grasshopper *Eyprepocnemis plorans*. Proceedings of The Royal Society B Biological Sciences, 265: 1903-1909.

Nur, U. 1966. Harmful B chromosomes in a mealy bug population. Genetics, 54:1225-1238.

Nur, U. 1969. Mitotic instability leading to an accumulation of B-chromosomes in grasshoppers. Chromosoma, 27: 1-19

Östergren, G., 1945. Parasitic nature of extra fragment chromosomes. Botaniska Notiser, 2: 157-163.

Pardo, M., López-León, M. Cabrero, J. y Camacho, J. 1994. Transmission analysis of mitotically instable B chromosomes in *Locusta migratoria*. Genome, 37: 1027-1034.

Pardo, M., López-León, M., Viseras, E., Cabrero J. y Camacho, J. 1995. Mitotic instability of B chromosomes during embryo development in *Locusta migratoria*. Heredity, 74: 164-169.

Perfectti, F. y Werren, J. 2001. The interspecific origin of B chromosomes: experimental evidence. Evolution, 55: 1069-1073.

Puertas, M. 2002. Nature and evolution of B chromosomes in plants: a non-coding but information-rich part of plant genomes. Journal of Cytogenetic and Genome Research, 96: 198-205.

Rebollo, E., Martin, S., Manzanero, S., Arana, P. 1998. Chromosomal strategies for adaptation to univalency. Chromosome Research, 6: 515-531.

Rosetti, N., Vilardi, J. y Remis, M. 2007. Effects of B chromosomes and supernumerary segments on morphometric traits and adult fitness components in the grasshopper, *Dichroplus elongates* (Acrididae). Journal of Evolutionary Biology, 20: 249-259.

Suja, J. y Rufas J. 1989. Mechanisms promoting the appearance of abnormal spermatids in B-carrier individuals of *Eyprepocnemis plorans* (Orthoptera). Genome, 32: 64-71.

Suja, J., Gosálvez, J., López-Fernández, C. y Rufas J. 1986. A cytogenetic analysis in *Psophus stridulus* (L) (Orthoptera:Acrididae): B-chromosomes and abnormal spermatid nuclei. Genetica, 70: 217-224.

Teruel, M., Cabrero, J. y Perfectti, F. 2010. B chromosome ancestry revealed by histone genes in the migratory locust. Chromosoma, 119: 217-225.

Teruel, M., Cabrero, J., Perfectti, F., Camacho, J. 2009a. Quantitative analysis of expression in a B chromosome of the grasshopper *Eyprepocnemis ploran.* Chromosoma, 118(3): 291-301.

Teruel, M., Cabrero, J., Perfectti, F., Alché, J., Camacho, J. 2009b. Abnormal spermatid formation in the presence of the parasitic B_{24} chromosome in the grasshopper *Eyprepocnemis ploran.* Sexual Development, 3: 284-289.

Turk, S. y Aquino, A. 2009. Diversificación de hábitat en Acrididos: *Stenopola bohlsii* Giglio Tos con referencia a su bionomía (Acrididae: Leptysminae) Anais de eventos de 8va. Jornada Científica e Tecnológica de UFSCar. V 5: 14 .

Turk, S., Aquino, A. y Carbonell, C. 2000. Primer registro de *Stenopola bohlsii* Giglio-Tos 1985, para el Noroeste Argentino. Un cromatomorfo atípico. Neotrópica, 46:79.

Viseras, E., Camacho, J., Cano, M. y Santos, J. 1990. Relationship between mitotic instability and accumulation of B chromosomes in males and females of *Locusta migratoria.* Genome, 33: 23-29.

White, M. 1973. Animal Cytology and Evolution. 3rd Ed. Cambridge Univ. Press, London-New York.

Wilson, E. 1907. The supernumerary chromosomes of Hemiptera. Science, 26: 870-871.

Zeyl, C. y Green, D. 1992. Heteromorphism for a highly repeated sequence in the New Zealang frog *Leiopelma hochstetteri.* Evolution, 46: 1891-1899.

Zima, J., Piálek, J. y Macholán, M. 2003. Possible heterotic effects of B chromosomes on body mass in a population of *Apodemus flavicolli.* Canadian Journal of Zoology, 81: 1312-1317.

Zurita, S., Cabrero, J., López-León, M. y Camacho, J. 1998. Polymorphism regeneration for a neutralized selfish B chromosome. Evolution, 52: 274-277.